

Министерство сельского хозяйства СССР

Всесоюзный научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной радиологии

На правах рукописи

УДК 577.39:591.1:575.2

СТАРИЧЕНКО

Вера Ивановна

**МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ
ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
СКЕЛЕТНОГО МЕТАБОЛИЗМА
РАДИОНУКЛИДОВ**

(03.00.01 — радиобиология)

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Обнинск — 1985

Работа выполнена в лаборатории радиобиологии животных Института экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР.

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

кандидат медицинских наук Любашевский Н. М.

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

доктор биологических наук Сироткин А. Н.

кандидат медицинских наук Калистратова В. С.

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ:

Всесоюзный научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных.

Защита диссертации состоится « *17* » *декабря* 1985 г. в 11 часов на заседании специализированного совета К 120.81.01 при Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной радиологии МСХ СССР по адресу: 127550, г. Москва, ул. Прянишникова, 6, корпус 17 (старый).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всесоюзного научно-исследовательского института сельскохозяйственной радиологии.

Отзывы просьба направлять по адресу: 249020, Калужская обл., г. Обнинск, ВНИИСХР, спецсовет.

Автореферат разослан « *12* » *ноября* . 1985 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук

Н. И. Санжарова

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ РАДИОЛОГИИ

На правах рукописи

СТАРИЧЕНКО ВЕРА ИВАНОВНА

УДК 577.39:591.1:575.2

МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ
ИЗМЕНЧИВОСТИ СКЕЛЕТНОГО МЕТАБОЛИЗМА РАДИОНУКЛИДОВ

03.00.01 - радиобиология

А в т о р е ф е р а т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Обнинск - 1985

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Исследование загрязнения биосферы, в том числе человека и сельскохозяйственных животных, продуктами радиоактивного распада сохраняет свою актуальность (Ильин, 1977; Корнеев и др., 1977; Алексахин, 1982). Поведение радионуклидов в организме позвоночных к настоящему времени изучено очень подробно, однако проблема индивидуального прогнозирования их кинетики остается нерешенной. В известных руководствах и справочниках приводятся только средневидовые величины, характеризующие обмен радионуклидов, но при рассмотрении их кинетики у отдельной особи использование этих величин может привести к существенным ошибкам (Likhtarev et al., 1975; Thomas et al., 1984).

Причины индивидуальных особенностей обмена остеотропных радионуклидов изучены очень мало. Для объяснения механизмов скелетного метаболизма радионуклидов у позвоночных была предложена концепция лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена (Любашевский, 1980). Морфологические структуры, физиологические процессы и реакции, определяющие накопление и выведение остеотропных веществ из скелета, были названы морфо-физиологическими факторами (МФФ) обмена. Из большого числа МФФ была выделена система ведущих, лимитирующих факторов (ЛМФФ), необходимая и достаточная для полного описания и анализа судьбы остеотропного вещества в целостном организме. К ЛМФФ относятся, например: кровоток через скелет, депонирующий агент (метаболиты остеогенных клеток типа лимонной кислоты), площадь поверхности скелета, отношение площади поверхности скелета к его объему, интенсивность роста и резорбции костной ткани и другие. Через систему, состоящую из 10 ЛМФФ, опосредуется влияние экзо- и эндогенных воздействий. Однако конкретный анализ поведения остеотропных радионуклидов в организме отдельной особи с помощью концепции ЛМФФ не может быть проведен, пока не известны индивидуальные количественные характеристики (параметры) факторов и не разработаны методы их оценки; нет также апробированных подходов к достоверной оценке индивидуальных различий обмена.

Данная работа посвящена количественному изучению ряда морфологических (площадь поверхности скелета, отношение площади поверхности к объему костной ткани и объему крови) и физиологических (скорость роста и интенсивность резорбции) факторов.

Цель и задачи исследования. Цель работы - изучение закономерностей поведения остеотропных радионуклидов в организме отдельной особи (на примере иттрия-91 у крысы) на основе концепции лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена остеотропных веществ в скелете позвоночных и оценка роли генотипа в генезе морфо-физиологических факторов. Сформулированная цель достигается путем решения следующих основных задач.

1. Оценить сравнительный вклад индивидуальных особенностей скелетного метаболизма во внутривидовую изменчивость и межвидовые различия обмена остеотропных радионуклидов (по литературным данным).

2. Разработать методики, позволяющие количественно охарактеризовать ряд лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена (ЛМФФ) у отдельной особи.

3. Дать развернутую характеристику параметров изучаемых ЛМФФ взрослой крысы и для сравнения - параметры отдельных ЛМФФ животных нескольких других видов.

4. Исследовать, как индивидуальные особенности обмена иттрия-91 в скелете крысы связаны с количественными различиями лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена; применив перелом в качестве искусственного приема, модифицирующего ЛМФФ в месте травмы, показать количественную зависимость кинетики иттрия-91 от изменения параметров ряда ЛМФФ и определить их минимальные сдвиги, достоверно изменяющие накопление радиоиттрия.

5. Оценить роль генотипической и модификационной изменчивости в генезе морфологических структур и физиологических процессов, определяющих обмен радионуклидов в скелете, на основе изучения индикаторных неметрических пороговых признаков скелета.

Научная новизна. Впервые проанализирован комплекс проблем, связанных с индивидуальными особенностями обмена остеотропных радионуклидов в скелете позвоночных. Показана обусловленность особенностей обмена иттрия-91 в скелете отдельной особи параметрами ряда лимитирующих морфо-физиологических факторов (площадь поверхности скелета, отношение площади поверхности к объему костной ткани и объему крови, скорость аппозиционного роста и интенсивность резорбции кости). Выявлено, что в формировании различий морфологических структур и физиологических процессов в скелете позвоночных, индикаторами которых служили альтернативные неметрические признаки скелета, генотипу принадлежит ведущее значение, в то время как факторы внешней среды играют значительно меньшую роль. Разработан ряд

методик определения индивидуальных количественных характеристик МЭФ.

Практическая значимость. Анализ состояния проблемы индивидуальной изменчивости обмена остеотропных радионуклидов у позвоночных и результаты собственных экспериментальных исследований нашли отражение в курсах лекций по радиобиологии (Уральский госуниверситет) и по охране окружающей среды (Всесоюзный институт повышения квалификации специалистов Минцветмет СССР). На основании полученных данных подготавливаются рекомендации по профессиональному отбору людей, подвергающихся в процессе работы воздействию на скелет неблагоприятных факторов внешней среды. Предлагаемые методы изучения МЭФ могут быть применены для определения индивидуальных параметров факторов, используемых в прогностических моделях, для целей радионуклидной диагностики заболеваний скелета и в изучении нормальной физиологии кальцифицированных тканей у хозяйственно важных видов животных и человека. Закономерности, изученные в работе, позволили также принять участие в разработке метода мечення мелких млекопитающих (а.с. № 1015301).

Апробация. Результаты работы докладывались на конференциях молодых ученых ИЭР и Ж УНЦ АН СССР в 1973, 1980, 1981 гг., на III Зональной конференции по применению изотопов (Свердловск, 1973), на УП Уральской научной конференции физиологов, биохимиков и фармакологов (Ижевск, 1973), на УП Уральской конференции по радиационной медицине (Свердловск, 1980), на Совещании по проблемам радиоэкологии с/х животных (Обнинск, 1980), на конференции "Математическое моделирование в медицине и биологии" (Свердловск, 1981), на VI Всесоюзной конференции по экологической физиологии (Сыктывкар, 1982), на VI Всесоюзном совещании по грызунам (Ленинград, 1984), на Всесоюзной конференции "Регистрирующие структуры и определение возраста млекопитающих" (Москва, 1984), на III Всесоюзном совещании по фенетике популяций (Саратов, 1985), на совещании "Биохимическая экология. Экспериментальная и клиническая биохимия" (Свердловск, 1985).

Публикации. По материалам выполненных исследований опубликовано 15 работ, получено одно авторское свидетельство на изобретение и одно удостоверение на рационализаторское предложение.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав и выводов, изложена на 189 страницах, содержит 16 рисунков и 28 таблиц. Список литературы включает 292 источника, из них 130 – на иностранных языках.

1. ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ОСТЕОТРОПНЫХ РАДИОНУКЛИДОВ В СКЕЛЕТЕ ПОЗВОНОЧНЫХ И ФАКТОРЫ, ИХ ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ (по литературным данным)

Анализ литературного материала по обмену остеотропных радионуклидов в организме позвоночных показывает, что размах индивидуальных различий обмена даже внутри однородной по полу и возрасту группы особей одного вида может достигать десятков процентов и в некоторых случаях перекрывает межвидовые различия.

Приводятся основные положения концепции лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена в применении к индивидуальной изменчивости скелетного метаболизма радионуклидов и дается краткая характеристика факторов, изучению параметров которых посвящена экспериментальная часть работы. Показано наличие индивидуальных особенностей любых характеристик костной ткани и всего скелета в целом.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенную экспериментальную работу можно условно разделить на три части: 1) определение параметров ряда ЛМФФ у интактных животных, 2) радионуклидные исследования и 3) выявление влияния наследственных и ненаследственных факторов на генез фенотипических особенностей скелета.

Определение параметров ЛМФФ проведено на белых лабораторных крысах стадного разведения линии Вистар; использован также костный материал от других видов (всего 72 животных). Для определения площадей нативных костных поверхностей применяли метод коллодиевых реплик, аппроксимацию отдельных участков костей правильными геометрическими фигурами, а также метод, основанный на определении значений промежуточных параметров факторов (таких, как удельная поверхность, трабекулярность кости, костный объем спонгиозы) и использовании их в последующих расчетах. Интенсивность роста и резорбции костной ткани изучали в ультрафиолетовом свете на костном материале животных, прижизненно получавших двойную инъекцию тетрациклина (20 тыс. ед./100 г массы тела). Объем крови определяли методом разведения взвеси меченых хромом-51 эритроцитов (Паркер и др., 1981).

В качестве приема, модифицирующего ограниченное количество факторов в локальном участке, применены закрытые переломы различных костей скелета (от 2 до 10).

В радионуклидных исследованиях использован иттрий-91, который вводили взрослым крысам-самцам (32 животных) однократно внутривенно. Производили прижизненную радиометрию всего тела. После забоя на анализ отбирали пробы различных тканей, скелет исследовали детально. Одновременно изучали параметры ЛМФФ. Манипуляции с животными и забой производили под эфирным наркозом.

Весь материал, в том числе и методический, по выяснению роли генотипа и средовых воздействий в генезе индивидуальных особенностей скелетного метаболизма вынесен в пятую главу. Статистическую обработку экспериментального материала осуществляли общепринятыми методами (Плохинский, 1970; Рокицкий, 1973).

3. ПАРАМЕТРЫ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ У ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ

В табл. I приведены параметры ряда морфологических факторов у интактных животных нескольких видов. Не найдено какой-либо закономерности в изменении параметров факторов при увеличении размеров и массы тела животных (за исключением удельной поверхности кортикальной кости, уменьшающейся с увеличением массы тела).

Таблица I

Удельная поверхность, трабекулярность и костный объем спонгиозы у разных видов животных на примере бедренной кости I)

Вид	Масса тела, кг	n	Удельная поверхность, см ⁻¹		Трабекулярность, %	Костный объем спонгиозы, %
			спонгиоза дистального эпифиза	кортикальная кость диафиза		
Мышь	0,028± 0,001	8	342 ± 7 (318-370)*	86 ± 4,3 (68-100)	27,4 ± 0,5 (25,1-30,2)	29,6 ± 0,9 (27,1-33,7)
Лягушка	0,094± 0,017	5	251 ± 15 (230-290)	54 ± 1,9 (48-56)	8,6 ± 0,8 (7,1-11,0)	42,3 ± 2,4 (38,9-49,4)
Крыса	0,317± 0,009	8	382 ± 7 (360-414)	30 ± 1,2 (27-34)	28,6 ± 1,1 (22,7-33,0)	31,0 ± 0,6 (27,6-34,8)
Курица	1,8 ± 0,1	3	430 ± 13 (415-450)	25 ± 2,2 (20-30)	31,8 ± 2,1 (28,1-33,8)	33,8 ± 1,0 (32,3-34,7)
Собака	10,6- 18,8	5	230 ± 4 (207-260)	10 ± 0,5 (8,5-11)	30,5 ± 0,6 (27,0-32,0)	27,7 ± 0,5 (23,5-30,1)

I) В этой и последующих таблицах приведены средние ($\bar{X}$) и ошибка среднего (m).

* В скобках диапазон значений для сравнения с литературными данными.

Площадь поверхности всего скелета взрослой крысы определена экспериментально (табл.2) и верифицирована расчетным путем (табл.3). Отсутствие аналогичных литературных данных не позволило сделать количественных сопоставлений.

Таблица 2

Площадь поверхности отдельных костей и всего скелета крысы (см²)

Масса тела, г	Бедренная кость	Большеберцовая кость	Нижняя челюсть	Тазовые кости	Лопатка	Весь скелет
270	30,8	20,2	14,4	35,7	8,2	738
344	31,8	19,8	17,8	37,9	8,8	767
347	27,5	17,5	18,8	38,1	8,8	759
351	30,3	21,5	17,9	40,3	9,8	783
398	40,7	24,3	20,0	49,4	11,9	828
342±20	32,2±2,2	20,7±1,1	17,8±0,9	40,3±2,4	9,5±0,6	775±15

Таблица 3

Площадь поверхности скелета (S) животных разных видов, полученная расчетным путем (собственные и литературные данные)

Вид	Тип костной ткани	Исходные показатели			S, см ²	Масса тела, кг	Источник
		Масса, г	Объем, см ³	см ⁻¹			
Мышь	трабек. компак.	0,428	0,214	300	89,9	0,03	Harley, Pasternack, 1976
		1,712	0,856	30			
Крыса	трабек. компак.	3,133	1,741	380	830	0,32	Собственные данные
		10,087	5,604	30			
Собака	трабек. компак.	128	64	210	21120	9	Harley, Pasternack, 1976
		512	256	30			
Человек	трабек. компак.	1000	500	120	120000	70	ICRP Publication 20, 1973; Harley, Pasternack, 1976; МНРЗ публ. № 23, 1977
		4000	2000	30			

При изучении процессов роста и резорбции в скелете крыс в разные возрастные периоды установлено, что распределение тетрациклина у молодых интенсивно растущих и взрослых прекративших расти животных резко различается. Отмечены большие внутрискелетные различия по темпам перестройки костей. В качестве репрезентативных участков выбраны длинные трубчатые кости. У интенсивно растущих животных большая часть костных поверхностей несет одиночную или двойную тетрациклиновую метку; скорость аппозиционного роста в этот период колеблется от 3-4 до 20-30 мкм/сут не только у отдельных особей, но и в различных участках одной и той же кости. С возрастом происходит закономерное снижение скорости аппозиционного костеобразования (табл.4). У взрослых животных (6-10 мес) сильно сокращается интенсивность флуоресценции кости и общее количество меток; скорость прироста костной ткани - 0,5-2,8 мкм/сут. Все изученные картины распределения тетрациклина в различных участках одной и той же кости хорошо объясняются известными механизмами роста (Нам, 1952; Румянцев, 1958; Мажуга, 1960; Enlow, 1962, 1963; Заварзин, 1976). В резце нижней челюсти крысы до месячного возраста интенсивность новообразования дентина составляет 6-12 мкм/сут, в старших возрастных группах - 16-20 мкм/сут. Скорость роста резца - 400-430 мкм/сут. В связи с уникальными особенностями роста накопление в резце остеотропных веществ не может адекватно отражать физиологическое состояние костной ткани, однако изменение его радиоактивности может быть показателем времени, прошедшего с момента поступления радионуклида в организм.

Оценив интенсивность ростовых процессов в скелете крыс на протяжении жизни, выбрали возрастную группу животных (6-10 месяцев), у которых процессы роста и резорбции уравновешены и об интенсивности резорбции костной ткани которых можно судить на основании более прецизионных измерений скорости костеобразования.

Таблица 4

Скорость периостального
костеобразования на уровне
середины диафиза (мкм/сут)

Возраст, сутки	Бедренная кость	Большеберцовая кость
10	8,5 ± 0,5	7,9 ± 0,8
14	8,2 ± 0,7	8,1 ± 0,6
20	7,8 ± 0,9	7,3 ± 0,6
27	6,9 ± 0,5	6,5 ± 0,4
34	6,4 ± 0,4	6,1 ± 0,5
40	5,6 ± 0,4	5,2 ± 0,2
60-65	4,4 ± 0,5	4,3 ± 0,2
80-90	2,9 ± 0,2	2,7 ± 0,2

4. ОБМЕН РАДИОИТТРИЯ В СКЕЛЕТЕ ОТДЕЛЬНОЙ ОСОБИ

Индивидуальные различия кинетики иттрия-91 и изменчивость индивидуальных параметров МФФ. С целью получения значительных индивидуальных различий в накоплении скелетом радионуклида опыт был поставлен на животных, обладающих выраженными конституциональными различиями. В результате прижизненной радиометрии получены кривые выведения иттрия-91 (рис.1). Содержание радионуклида во всем организме, скелете и мягких тканях на момент забоя приведено в табл.5, результаты морфометрических исследований - в табл.6.

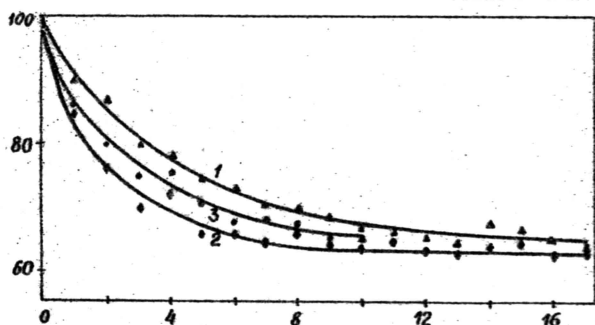


Рис.1. Динамика содержания иттрия-91 в организме крыс (с поправкой на распад). По оси абсцисс - длительность наблюдения (сутки), по оси ординат - содержание радионуклида во всем теле (% от введенного). Цифрами обозначены номера животных.

Таблица 5

Содержание иттрия-91 в организме крыс

№	Возраст, мес	Масса тела, г		Иттрий-91, % от введенного			
		в начале опыта	в конце опыта	весь организм	мягкие ткани	скелет	бедренная кость
1	6	445	356	65,33	9,30	56,03	2,27
2	20	540	461	56,64	14,39	42,25	1,05
3	20	675	634	59,88	15,46	44,42	1,47

Морфометрические параметры ММФ

№	Скелет		Бедренная кость				Скорость аппози- ционного роста, мкм/сут	S/V _к , усл.ед.
	Масса костной ткани, г		Спонгиоза		Тр, %	S, см ²		
			S/V, см ⁻¹	костный объем, %				
1	14,10	0,6202	280±14	40,0±1,4	26,5	41,9	2,4±0,1	66,3
2	19,42	0,7162	266±26	28,6±3,3	19,8	40,1	1,8±0,2	81,9
3	23,52	1,0691	252±12	35,8±1,0	17,3	56,3	1,7±0,2	69,1

Примечание: S/V – удельная поверхность, Тр – трабекулярность,
S – площадь поверхности, S/V_к – отношение площади
поверхности скелета к объему крови.

Полученные параметры ЛМФФ дают качественную характеристику процессов накопления-выведения иттрия-91 в скелетах подопытных животных и возможность сопоставления ее с данными прямой прижизненной радиометрии. Исходя из параметров ЛМФФ, самое высокое содержание иттрия-91 на протяжении всего опыта должно быть у животного № 1. Выведение радионуклида из скелета путем десорбции зависит, в основном, от величины отношения площади поверхности скелета к объему крови. По этому показателю крысы располагаются в ряд: № 1 < № 3 < № 2. Скорость аппозиционного роста, приводящая к замуровыванию и препятствующая выведению радионуклида из кости, у животного № 1 также самая высокая. Исходя из представлений о сбалансированности процессов роста и резорбции у взрослых животных (прирост = резорбции), интенсивность резорбции у животного № 1 > № 2 > № 3, т.е. высокий уровень резорбции у животного № 1 противодействует задержке иттрия-91 в скелете, но, с другой стороны, свидетельствует об относительно высокой функциональной активности остеокластов. Это косвенно указывает на увеличенную продукцию скелетом депонирующего агента, роль которого играют метаболиты типа лимонной кислоты (Льбашевский, 1980), а основным источником являются остеокласты (Ньюман, Ньюман, 1961; Слудский, 1969; Торбенко, Касавина, 1977). Под влиянием депонирующего агента выведенный в кровь в результате резорбции, десорбции и обменных процессов в мягких тканях радиоиттрий при рециркуляции у животного № 1 в большей мере, чем у других животных, кумулируется в кости.

На второе место по скорости выведения иттрия-91 следует поставить животное № 3, поскольку при сравнении с животным № 2 видно, что интенсивность процессов роста и резорбции у них практически одинакова, а величина отношения площади поверхности скелета к объему крови у него меньше, чем у животного № 2. Приведенные соображения вполне соответствуют фактической картине прижизненной радиометрии этих животных (рис.1): как на основании теоретических выкладок, так и по экспериментальным кривым, животные по скорости выведения иттрия-91 располагаются в следующем порядке - № 1 < № 3 < № 2.

Кинетика радиоиттрия в организме при очаговом новообразовании костной ткани. Так как оценить вклад каждого фактора на уровне целостного организма пока не представляется возможным, мы попытались уменьшить количество варьирующих факторов. У однородных по массе тела и возрасту животных искусственно увеличили массу костной ткани, а следовательно - площадь поверхности. Моделью увеличения площади поверхности служило различное количество новообразованной костной ткани в результате репарации переломов.

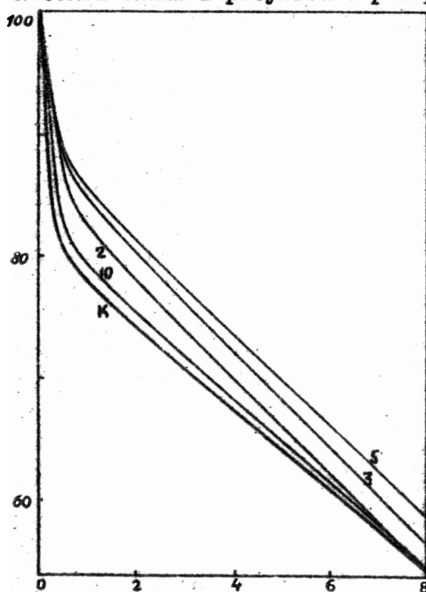


Рис.2. Динамика содержания иттрия-91 в группах крыс, различающихся количеством переломов. Обозначения осей те же, что на рис.1. Цифры - количество переломов в группе, "К" - контроль.

Иттрий-91 вводили животным через два месяца после нанесения переломов, поскольку результаты предварительных экспериментов и литературные данные (Френкель и др., 1980; Швырков и др., 1982) указывают на полное срастание переломов к этому времени. На рис.2 представлена динамика содержания радиоиттрия в организме подопытных и контрольных животных на основании прижизненной радиометрии всего тела. Различия в накоплении иттрия-91 в зависимости от количества переломов были получены как средние данные по всей группе, состоящей из 4-6 животных, и не являются индивидуальными. Тем не менее тщательный подбор животных в опыт и их относительная генетическая однородность позволили предположить, что влияние очаго-

вого поражения является фактором, на фоне которого будут малосущественны другие особенности обмена. Однако незначительные различия между кривыми не позволили выявить четкой зависимости между числом переломов и изменением в кинетике поведения иттрия-91 на уровне целостного организма.

При сравнении экспериментальных и контрольной групп животных по содержанию иттрия-91 во всем организме и скелете (табл.7, колонки 2,3) на фоне общей тенденции к увеличению накопления по мере возрастания числа переломов достоверных различий не наблюдалось; при более узком сравнении (табл.7, колонки 4,5) значимы различия между соседними группами ($p < 0,05$; исключение - группы с 2 и 3 переломами в колонке 4) и при сравнении их с контролем ($p < 0,01$). При этом обнаружено, что различия между соседними группами по массе костной ткани недостоверны.

Таблица 7

Разница в содержании иттрия-91 в эксперименте
и контроле (ΔA , % от введенного)

Группа	Весь организм		Скелет		Группа I) костей		Переломы 2)	
	ΔA	$m_{\Delta A}$	ΔA	$m_{\Delta A}$	ΔA	$m_{\Delta A}$	ΔA	$m_{\Delta A}$
2 перелома	1,77	9,28	1,12	3,66	1,62	0,69	1,57*	0,35
3 перелома	5,12	7,62	4,59	3,67	2,73*	0,60	2,52*	0,12
5 переломов	4,76	9,23	4,49	5,47	3,82*	0,79	3,43*	0,27
10 переломов	6,30	9,16	5,39	3,53	5,72*	0,81	5,65*	0,76

Примечание: I) - обе малоберцовые, большеберцовые, плечевые, локтевые, лучевые и лопаточные кости (всего 12 костей);
2) - разница между сломанными и симметричными костями ("контроль");
* - различия с контролем достоверны ($p < 0,01$).

Для объяснения этого явления был проведен корреляционный анализ зависимости увеличения накопления иттрия-91 от прироста массы новообразованной кости. Общий коэффициент корреляции составляет $0,74 \pm 0,09$. При сравнении коэффициентов корреляции отдельно для каждой группы костей было обнаружено, что он уменьшается в направлении: лучевая и локтевая кости - плечевая кость - большая и малая берцовые кости - лопатка (0,89; 0,69; 0,41 и 0,12, соответственно). Поэтому увеличение массы сломанных костей не является абсолютной харак-

теристикой группы и показателем числа переломов, оно отражает только тенденцию к общему нарастанию массы новообразованной костной ткани. Очевидна также тенденция к перераспределению в скелете костного вещества и иттрия-91 даже через два с лишним месяца после травмы. Радиометрические и автордиографические исследования выявили повышенное накопление радионуклида местом бывшего перелома. Менее выражен эффект при рассмотрении больших участков скелета; так, если в соседней с переломом кости и выборке из ограниченного числа костей можно выявить достоверное влияние локального повреждения, то уже во всем скелете, а тем более - в целом организме, это влияние принимает смазанный, расплывчатый характер.

Расчетным путем определили увеличение содержания иттрия-91 за счет новообразованной кости. Сравнение расчетных и экспериментальных результатов показало, что расчет дает в среднем в 2,6 раза заниженные данные, что может быть объяснено изменением в локусе регенерации не только площади поверхности, но и некоторых других ЛМФФ (например, кровотока, продукции депонирующего агента, интенсивности процессов костной перестройки).

Используя критерий Стьюдента, показали, что достоверные сдвиги в кинетике иттрия-91 на уровне организма должны вызываться увеличением площади поверхности новообразованной кости на 43-113, на тканево-системном уровне - на 28-70 и на локальном уровне - на 3,1-9,8% площади поверхности всего скелета. Таким образом, даже относительно большие искусственные локальные сдвиги группы ЛМФФ вызывают не очень значительные сдвиги обмена радиоиттрия на уровне целостного организма. В то же время в ряду интактных наблюдаются особи, существенно различающиеся по обмену остеотропных радионуклидов и некоторым параметрам ЛМФФ. Это послужило одной из причин, побудивших оценить роль генотипа в происхождении морфо-физиологических факторов обмена.

5. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ГЕНЕЗА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ СКЕЛЕТА

Исследование роли генотипических и средовых влияний в происхождении ЛМФФ проведено на примере встречаемости индикаторных альтернативных признаков скелета, поскольку изменчивость этих признаков характеризует вариабельность формы и трофических особенностей кости, определяющих параметры факторов, имеющих отношение к метаболизму. Применен метод аппроксимации индивидуальных характеристик групповы-

ми показателями однородной по возрасту и генотипу выборки линейных животных.

Изучали встречаемость 26 альтернативных неметрических (т.н. "пороговых") признаков скелета (наличие или отсутствие отверстий для кровеносных сосудов и нервов, дополнительные костные элементы, выпадение фрагментов кости и т.д.). Большая часть признаков относится к черепу (Berry, 1963; Berry, Searle, 1963; Hartman, 1980; Васильев, 1984). Рядом работ (Hilborn, 1974; Self, Leamy, 1978) показано, что генетический вклад в их изменчивость достаточно велик. Была произведена классификация особей, при которой отмечали наличие того или иного признака у каждой особи, а потом для выборки подсчитывали частоту встречаемости каждого признака. По совокупности частот всех признаков рассчитывали фенетические дистанции между сравниваемыми группами животных. Использован статистический метод их определения по Hartman (1980). Проведены две серии исследований.

В первой с целью определения генетической обусловленности особенностей строения скелета сравнивали четыре группы (по 40 животных) лабораторных мышей (линии СВА, BALB/c, C57BL/6 и нелинейные мыши).

Во второй серии исследовали влияние факторов внешней среды на изменчивость тех же скелетных признаков у мышей линии BALB/c. Учитывая, что неметрические пороговые признаки формируются в процессе эмбриогенеза, влияниям подвергали беременных самок (I20). В качестве воздействий применены различные режимы охлаждения, инъекции гормональных препаратов (ПТГ, АКТГ) и химическая блокада функции щитовидной железы включением в диету метилтиоурацила (MTU). Срок воздействия: сразу после прекращения периода спаривания и до конца беременности. Исследован скелетный материал от 174 детенышей.

Сравнение трех групп интактных линейных мышей показало достоверные различия между ними по массе тела и массе бедренной кости ($p < 0,001-0,05$), а также ряду размерных признаков черепа ($p < 0,05$). Оказались велики и фенетические дистанции по комплексу неметрических пороговых признаков черепа (табл.8). Нелинейные мыши по всем признакам занимают промежуточное положение, достоверно ($p < 0,001-0,05$) отличаясь от линейных животных.

Таблица 8

Фенетические дистанции по комплексу неметрических признаков скелета между линейными и нелинейными (н/л) мышами

Линия	СВА	ВАЛВ/с	н/л
С57BL/6	0,727 (0,060)	0,785 (0,062)	0,485 (0,053)
СВА	-	0,583 (0,052)	0,465 (0,053)
ВАЛВ/с	-	-	0,117 (0,022)

В экспериментальных группах отчетливо выражено влияние воздействий на весовые и размерные показатели потомства. Максимальные дистанции пороговых признаков между подопытными группами на порядок меньше межлинейных (табл.9). Ни в одном случае не удалось с помощью экспериментальных воздействий в раннем онтогенезе получить различий, сопоставимых с межлинейными.

Таблица 9

Фенетические дистанции по комплексу неметрических признаков скелета между экспериментальными группами мышей линии: ВАЛВ/с

Группа	Контроль (весна)	МТУ	АКТГ	ПТГ	Холод I	Холод II
Контроль (лето)	0,008 (0,010)	-0,004 -	0,062 (0,024)	0,049 (0,022)	0,053 (0,025)	0,056 (0,021)
Контроль (весна)	-	-0,011 -	0,041 (0,021)	0,015 (0,010)	0,034 (0,019)	0,017 (0,010)
МТУ	-	-	0,045 (0,030)	0,045 (0,028)	0,044 (0,028)	0,036 (0,026)
АКТГ	-	-	-	0,022 (0,013)	-0,001 -	0,030 (0,014)
ПТГ	-	-	-	-	-0,002 -	0,038 (0,016)
Холод I	-	-	-	-	-	-0,003 -

Примечание к табл.8,9: в скобках приведены средние квадратичные отклонения; отрицательные значения указывают на недостоверность различий.

ВЫВОДЫ

1. Индивидуальные особенности обмена остеотропных радионуклидов в скелете позвоночных животных и человека одного возраста и пола настолько значительны, что могут перекрывать межвидовые различия, и исследование механизмов возникновения этих особенностей представляет собой важную радиобиологическую проблему.

2. Разработаны оригинальные методики определения параметров морфо-физиологических факторов обмена остеотропных веществ (величины внешней и общей нативных поверхностей, трабекулярности кости), а также метод модификации лимитирующих морфо-физиологических факторов с помощью множественных переломов.

3. Определен ряд количественных характеристик морфо-физиологических факторов в организме взрослой крысы.

3.1. Площадь нативной поверхности скелета - $738-828 \text{ см}^2$.

3.2. Удельная поверхность (без учета поверхности сосудистых каналов) для компактной кости - $27-34 \text{ см}^{-1}$, для губчатой кости - $360-414 \text{ см}^{-1}$.

3.3. Интенсивность новообразования костной ткани - от 0,5 до 2,8 мкм/сут у взрослых животных, у интенсивно растущих - от 3-4 до 20-30 мкм/сут. Она различается не только у отдельных особей и в различных участках скелета, но и в пределах одной и той же кости.

3.4. Трабекулярность бедренной кости - 22,7-33,0%.

3.5. Костный объем спонгиозы - 27,6-34,8%.

4. Не найдено какой-либо закономерности в изменении параметров морфо-физиологических факторов при увеличении размеров тела животных пяти изученных видов (за исключением параметра "удельная поверхность кортикальной кости", уменьшающегося с увеличением массы тела). В то же время индивидуальные параметры даже внутри однородной по массе тела и возрасту группы особей одного вида могут существенно различаться.

5. Экспериментально показано, что индивидуальные особенности кинетики иттрия-91 в скелете крыс объясняются различиями параметров лимитирующих морфо-физиологических факторов обмена (площадь поверхности скелета, удельная поверхность, отношение площади поверхности скелета к объему крови, скорость аппозиционного роста и интенсивность резорбции костной ткани).

6. Обнаружена высокая корреляция между накоплением иттрия-91 в локусе бывшего перелома и увеличением площади поверхности. Повышенной интенсивностью характеризуются некоторые важнейшие морфо-физио-

логические процессы, тесно связанные с поверхностью новообразованной костной ткани. Так, большая часть этой поверхности занята процессами перестройки, и скорость аппозиционного роста здесь колеблется от 1,5 до 5,6 мкм/сут.

7. Достоверные сдвиги в кинетике обмена иттрия-91 на уровне организма, тканево-системном и локальном уровнях можно определить при увеличении площади поверхности новообразованной костной ткани соответственно на 43-113, 28-70 и 3,1-9,8% площади поверхности всего скелета (при неизменности параметров остальных факторов).

8. Показано, что в генезе индивидуальной изменчивости альтернативных неметрических признаков скелета, использованных в качестве индикаторов морфо-физиологических факторов обмена остеотропных веществ в скелете, ведущая роль принадлежит генотипу, в то время как опосредованное материнским организмом действие факторов внешней среды проявляется в значительно меньшей степени.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

1. Любашевский Н.М., Степина В.И. Роль транспорта в обменных процессах ростковых зон скелета. - В кн.: Тезисы докладов УП Уральской научной конференции физиологов, биохимиков и фармакологов с участием практических врачей. Ижевск, 1973, с.272-273.
2. Степина В.И., Любашевский Н.М., Гайсина Ф.М. Применение радиоактивного изотопа для оценки гомеостаза кальция при экстремальных воздействиях. - В кн.: Новые направления применения изотопов в медицине. Свердловск, 1973, с.57-59.
3. Любашевский Н.М., Шарыгин Л.М., Степина В.И. Нативные поверхности и сорбционная способность зрелой и формирующейся костной ткани. - В кн.: Метаболизм радиоизотопов в животном организме. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1974, с.12-18.
4. Любашевский Н.М., Стариченко В.И. Авторадиографическая оценка сравнительной роли некоторых физико-химических факторов в накоплении остеотропных радиоизотопов скелетом. - В кн.: Комплексообразование и метаболизм радиоактивных изотопов. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1976, с.18-27.
5. Стариченко В.И. Особенности кровоснабжения и трофики костной ткани. - В кн.: Проблемы экологии, рационального использования и охраны природных ресурсов на Урале. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1980, с.103-105.
6. Любашевский Н.М., Попов Б.В., Стариченко В.И. Математическая модель влияния морфо-физиологических факторов обмена на метаболизм

- радионуклидов в скелете позвоночных. - В кн.: Математическое моделирование в медицине и биологии. Свердловск, 1981, с.24-26.
7. Стариченко В.И., Любашевский Н.М. Влияние гормональных воздействий и холода на беременных мышей. - В кн.: Адаптации организмов к природным условиям: Тез.докл. VI Всес.конф. по экологической физиологии. Сыктывкар, 1982, т.3, с.50.
 8. А.с.1015301 (СССР). Способ мечения мелких млекопитающих/А.В.Баженов, В.Н.Боляшаков, О.Ф.Садыков, В.И.Стариченко, О.А.Лукьянов. Заявл.27.07.81. № 3330974/30-15; Опубл.в В.И.,1983, № 16, с.159.
 9. Стариченко В.И., Попов Б.В., Любашевский Н.М. Анализ индивидуальной вариабельности обменных процессов в скелете крысы *Rattus rattus*. - В кн.: Грызуны: Матер. VI Всес.совещ. Л.: Наука, 1983, с.193-194.
 10. Стариченко В.И., Толстых Е.К. Формирование скелета крысы и его возрастные особенности. - В кн.: Исследование актуальных проблем териологии. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983, с.96-98.
 11. Фенетические дистанции между линиями лабораторных домовых мышей по комплексу неметрических пороговых признаков скелета / Васильев А.Г., Васильева И.А., Любашевский Н.М., Стариченко В.И. - В кн.: Генетико-селекционные исследования на Урале. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1984, с.9-10.
 12. Экспериментальное изучение влияния факторов среды в пренатальном развитии на изменчивость неметрических признаков скелета у мышей линии BA1b/c / Васильев А.Г., Васильева И.А., Стариченко В.И., Любашевский Н.М. - Там же, с.7-9.
 13. Стариченко В.И. Особенности кумулирования тетрациклина в резцах и кортикальной кости крыс в зависимости от возраста. - В кн.: Регистрирующие структуры и определение возраста млекопитающих: Тез.докл. Всес.конф. М., 1984, с.68-69.
 14. О роли генетических и средовых факторов в изменчивости неметрических пороговых признаков скелета млекопитающих / Васильев А.Г., Васильева И.А., Любашевский Н.М., Стариченко В.И. - В кн.: Фенетика популяций: Матер. III Всес.совещ. М., 1985, с.5-7.
 15. Перераспределение стронция-90 в мягких тканях крыс при экзогенных воздействиях/Любашевский Н.М., Сарапульцев И.А., Стариченко В.И., Кишпер С.Н. - В кн.: Биохимическая экология. Экспериментальная и клиническая биохимия. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1985, с.75-78.
 16. Стариченко В.И., Осипенко А.В., Любашевский Н.М. Модификация минерального обмена при индуцированном остеогенезе. - Там же, с.123-125.

